

氏名	佐藤 成
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	第3372号
学位授与年月日	平成9年12月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当者
学位論文名	Transforming growth factor- $\beta$ による細胞増殖抑制の機序に関する検討
論文審査委員	主査教授 大谷 周造    副主査教授 曾和 融生 副主査教授 北川 誠一

### 論文内容の要旨

Transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ )は細胞増殖を促進する物質として発見されたが、研究が進むとともに、増殖を抑制する場合の方が多いことがわかってきた。本研究ではTGF- $\beta$ とポリアミン代謝との関連に着目し、増殖抑制の機序について検討した。

【材料及び方法】細胞はmurine IL-2 dependent T cell line (CTLL)を用いた。実験に際して血清10%を加えたRPMI培地で16時間インキュベートした後、IL-2で刺激した。TGF- $\beta$ はこの時点で添加した。定められた時間に細胞を回収し、TGF- $\beta$ 添加群と非添加群について、ODC活性、ODC mRNA量、ODC活性の半減期、細胞内ポリアミン量、DNAへの $[^3\text{H}]$ thymidineの取り込みを測定した。

【結果】TGF- $\beta$ の添加によってODC活性は低下し、細胞内ODC mRNA量の減少がみられた。また、TGF- $\beta$ 添加群ではODC活性の半減期の短縮がみられた。細胞内putrescine濃度はTGF- $\beta$ により低下したが、spermidine, spermineの濃度は影響を受けなかった。培養液にputrescineを添加すると細胞内putrescine濃度は上昇し、TGF- $\beta$ による $[^3\text{H}]$ thymidineのDNAへの取り込みの抑制は減弱した。

これらの結果より、IL-2刺激によるDNA合成の促進にputrescineが重要な役割を果たしており、TGF- $\beta$ によってODC活性が抑制されることで細胞内putrescine濃度が低下し、その結果DNA合成が抑制されることが示唆された。さらに、ODC活性の抑制については、mRNA量を減少させる転写レベルでの抑制と、ODC活性の不活性化の促進という二つの機序があることが示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

TGF- $\beta$ はRb蛋白のリン酸化を抑制することにより、細胞のG1期からS期への移行を阻害すると考えられている。また、ポリアミン合成の律速酵素であるornithine decarboxylase(ODC)もG1期に誘導され、それにより細胞内ポリアミン濃度が増加することが細胞増殖に必須である。従って、著者はTGF- $\beta$ が細胞増殖の抑制に際しポリアミン代謝に影響を与えるか否かについて、interleukin-2 (IL-2)依存性に増殖するマウスT細胞(CTLL)を用いて実験を行った。IL-2を添加すると、CTLLのODC活性と16時間目をピークとして上昇したが、TGF- $\beta$ はその上昇を抑制した。この場合、ODC mRNA量もTGF- $\beta$ により減少した。また、シクロヘキシミドを添加した蛋白合成を停止させた後のODC活性の半減期はTGF- $\beta$ により短縮された。IL-2によるODC活性の上昇とともに、細胞内プトレスシン濃度も増加し、スベルミジン濃度及びスベルミン濃度もIL-2を添加した時の方が無添加時に比較し高かった。また、IL-2とTGF- $\beta$ をともに添加した場合の細胞内ポリアミン濃度はIL-2のみを添加した場合に比較し、プトレスシン濃度の減少が見られた。しかし、スベルミジン濃度とスベルミン濃度の変化は見られなかった。 $[^3\text{H}]$ ThymidineのDNAへの取り込みはTGF- $\beta$ により抑制され、その抑制はプトレスシンを添加することに

より消失した。TGF- $\beta$ によるプトレスシン濃度の減少も培養液中にプトレスシンを添加することによりなくなり、IL-2のみを添加した場合よりもプトレスシン濃度は増加したが、スベルミジン及びスベルミン濃度はむしろ減少した。これらの結果はIL-2によるDNA合成の促進にはポリアミン、特にプトレスシンが重要であり、TGF- $\beta$ による細胞増殖の抑制はIL-2によるODC活性の増加を阻害し、細胞内プトレスシン濃度を減少させることが原因の一つであることを示唆している。また、TGF- $\beta$ によるODC活性の抑制はODC mRNA量の減少とODCの半減期の短縮の二つの機序により行われることを明らかにしている。従って、この論文はTGF- $\beta$ による細胞増殖の調節の機序を知る上で一定の寄与をなすものであり、著者は博士（医学）の学位を授与されるに値する者と判定された。